

(54) OXYGEN DETECTING AGENT

- (11) 59-142463 (A) (43) 15.8.1984 (19) JP
 (21) Appl. No. 58-16200 (22) 4.2.1983
 (71) TOA GQSEI KAGAKU KOGYO K.K. (72) TERUO YOSHIDA(2)
 (51) Int. Cl. G01N31/22

PURPOSE: To measure with good sensibility the existence of a slight amount of O_2 in a hermetic package or the like by containing ≥ 1 compound selected among phosphates and its dehydrated condensing products and an oxidation-reduction coloring material.

CONSTITUTION: An oxygen detecting agent is prepared, which contains a phosphoric acid compd. e.g. phosphoric acid in the condition of quinque valent cation, its dehydrated condensing product such as alkaline metallic salt, alkaline earth metallic salt of pyrophosphoric acid, trimetaphosphoric acid or the like or their hydrate and a coloring material such as methyleneblue, safranin whose tone of color is dissimilar in the oxidation and reduction conditions, and the amount of the coloring material is in the range of 0.001~13wt% based on the total amount of above-described phosphoric acid compds. and the coloring material. Since a proper amount of water is necessary for the detecting agent, a hydrate such as $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$ contg. water of crystallization is contained together in a oxygen-permeable membrane, and the detecting is put in a hermetic package such as vacuum packing of food. If necessary, an extender (silica or the like), hydroxide or carbonate of alkaline earth metals for controlling the variation rate of the tone of color can be added. In this manner, the detecting agent has better sensibility than conventional ones and it is possible to detect even approximately 0.05vol% oxygen concentration.

**(54) MEASURING METHOD OF DIAMETER OF INORGANIC PARTICLE
 HAVING LIPOPHILIC PROPERTY**

- (11) 59-142464 (A) (43) 15.8.1984 (19) JP
 (21) Appl. No. 58-16783 (22) 2.2.1983
 (71) SUMITOMO KAGAKU KOGYO K.K. (72) KIKUO TAKEDA(1)
 (51) Int. Cl. G01N33/00, G01N15/04

PURPOSE: To measure easily diameters of particles with high accuracy by heating inorg. particles made oleophilic for a filler, an abrasive or the like, removing an lipophilic component, and measuring diameters of particles made hydrophilic by sedimentation and separation.

CONSTITUTION: When diameters of inorg. particles such as Al_2O_3 , TiO_2 , SiO_2 made lipophilic for an abrasive, pigments or the like are measured, a component giving oleophilicity such as higher fatty acid (its salt and ester), higher alcohol ether of polyoxyethylene or the like is evaporated, burned, or decomposed by heating, and removed till at least surface of particles are made hydrophilic and they are dispersed effectively in a hydrophilic solvent such as water, alcohol. Diameters of particles made hydrophilic are measured by spontaneous or centrifugal sedimentation and separation. In this manner, measurement of diameters of particles is carried out easily with good accuracy by using water.

**(54) MEASURING METHOD OF MATERIAL PROVIDED WITH ANTIGEN-
 DETERMINING GROUP**

- (11) 59-142466 (A) (43) 15.8.1984 (19) JP
 (21) Appl. No. 58-15435 (22) 3.2.1983
 (71) FUJI REBIO K.K. (72) YOSHIHIRO ASHIHARA(2)
 (51) Int. Cl. G01N33/54, A61K39/00, C12Q1/48//C12N15/00

PURPOSE: To measure hapten, etc. by a biotin-avidin reaction by bringing a material (hapten, antigen, etc.) 1 provided with an antigen-determining group in a specimen and a coupled body 3 of a material 2 having the same antigen-determining group as the material 1 and biotin (deriv.) into reaction with a common antibody.

CONSTITUTION: A material 1 provided with an antigen-determining group such as hapten, cancer antigen, etc. for medical products, hormone, etc. and a coupled body 3 of a material 2 having the same antigen-determining group as the material 1 (may be the material 1 itself) and biotin (or its deriv. which can be bound with avidin or streptavidin, etc.) are brought into reaction with an antibody (for example, the antibody obtained by immunizing the protein coupled body of hapten with an animal) that can be bound with the antigen-determining group common for the material 1 and the material 2. After avidin (deriv.) is brought into reaction with the reaction product thereof, biotin enzyme (propionyl CoA carboxylase, etc.) and substrate are added thereto, and the biotin enzyme activity is measured with the absorbancy, etc. of the material body by the reaction with the substrate. The quantitative determination of hapten, etc. with high sensitivity is thus made possible without the need for any special pretreatment of a specimen (serum, urine, etc.).

⑬ 日本国特許庁 (JP)
⑫ 公開特許公報 (A)

⑪ 特許出願公開

昭59—142466

⑤ Int. Cl.³
G 01 N 33/54
A 61 K 39/00
C 12 Q 1/48
// C 12 N 15/00

識別記号

庁内整理番号
H 7906—2G
6408—4C
8213—4B
7115—4B

⑬ 公開 昭和59年(1984)8月15日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 6 頁)

⑭ 抗原決定基具有物質の測定方法

⑯ 特 願 昭58—15435

⑰ 出 願 昭58(1983)2月3日

⑱ 発 明 者 芦原義弘

東京都新宿区下落合4丁目6番
7号富士臓器製薬株式会社内

⑲ 発 明 者 鈴木博正

東京都新宿区下落合4丁目6番

7号富士臓器製薬株式会社内

⑳ 発 明 者 笠原靖

東京都新宿区下落合4丁目6番
7号富士臓器製薬株式会社内

㉑ 出 願 人 富士レビオ株式会社

東京都新宿区下落合4丁目6番
7号

㉒ 代 理 人 弁理士 田中政浩

明 細 書

1 発明の名称

抗原決定基具有物質の測定方法

2 特許請求の範囲

検体に含まれる抗原決定基具有物質(1)と、この抗原決定基具有物質(1)と少なくとも一の抗原決定基を共通にする抗原決定基具有物質(2)とビオチン又はその誘導体であってアビジンもしくはストレプトアビジンと結合しうるものとの結合物とを、溶液中で前記の共通の抗原決定基と反応する抗体と接触せしめて反応させ、この反応物を、ビオチン酵素と、アビジン、ストレプトアビジン又はこれらの誘導体であってビオチンと結合しうるものとに、接触せしめ、その後ビオチン酵素の活性を測定することを特徴とする抗原決定基具有物質の測定方法

3 発明の詳細な説明

本発明は例えば血液に含まれる薬物あるいは各種疾患に由来する微量成分などを測定する方法に関するものである。

患者に投与されている薬物、例えばジゴキシン、テオフィリンなどの血中濃度を測定することは適正な治療を進めるうえで重要であり、また、癌など各種の疾患に由来する成分を検診者の血液から検出することは当該疾患の早期発見を行なう点で極めて有効である。

そこで、血液のこれらの微量成分を検出する方法が種々開発されているが、感度、特異性、大量検体の短時間処理などの点にすぐれる酵素免疫測定法が賞用されている。しかしながら、従来の酵素免疫測定法の場合には、未だ感度が充分とはいえず、また洗浄操作が繁雑であったり、チューブの移しかえが必要であったりして正確な濃度を求めることが容易でなかった。

そこで本発明者らは、さらに感度を高めかつ繁雑な操作を少ない分析方法を開発するべく検討を進め、ビオチン-アビジン系の反応を利用した酵素免疫測定方法を案出するに至った。そして、この方法を用いれば血中の微量成分を極めて高感度で測定できしかも操作もより簡便になることを見

出して、本発明を完成した。

すなわち本発明は、検体に含まれる抗原決定基具有物質(1)と、この抗原決定基具有物質(1)と少なくとも一の抗原決定基を共通にする抗原決定基具有物質(2)とビオチン又はその誘導体であってアビジンもしくはストレプトアビジンと結合しうるものとの結合物とを、溶液中で前記の共通の抗原決定基と反応する抗体と接触せしめて反応させ、この反応物を、ビオチン酵素と、アビジン、ストレプトアビジン又はこれらの誘導体であってビオチンと結合しうるものとの、接触せしめ、その後ビオチン酵素の活性を測定することを特徴とする抗原決定基具有物質の測定方法に関するものである。

本発明方法における測定対象は検体に含まれる抗原決定基具有物質(1)である。検体の種類は限定されないが、例えば血清、尿などである。血清、尿などの場合は、通常は特別な前処理を必要とせず、そのまま測定を行なうことができる。

抗原決定基具有物質(1)はリガンドとも呼ばれており、例えば、ジゴキシン、テオフィリン、フェ

ニトインなどの合成医薬品、ペニシリン、アミカシン、ゲンタマイシンなどの抗生物質、インシュリン、TSH、T₄、プロスタグランジン、IgG、 α -フェトプロテイン、グリコリピッド類、HBs抗原、ガン抗原などを含む。抗原決定基具有物質(1)に含まれる抗原決定基の数はひとつであってもよく、二以上であってもよい。

この抗原決定基具有物質(1)とともに後述する抗体に対して反応させるものは、抗原決定基具有物質(1)と少なくとも一の抗原決定基を共通にする抗原決定基具有物質(2)とビオチン又はその誘導体であってアビジンもしくはストレプトアビジンと結合しうるものとの結合物である。抗原決定基具有物質(2)も抗原決定基を一又は二以上具有している。そして、抗原決定基具有物質(2)は抗原決定基具有物質(1)とともに共通の抗体に対して抗原抗体反応させるところから、両者は少なくとも一の抗原決定基が共通しており、抗体はこの共通の抗原決定基に対するものでなければならない。抗原決定基具有物質(2)の抗原決定基は一以上が共通であれば

よく、全てが共通であってもよい。従って、抗原決定基具有物質(2)は抗原決定基具有物質(1)と同一であってもよい。

ビオチン誘導体はアビジンもしくはストレプトアビジンと結合しうるものであり、例えばビオチン、 δ -デスチオビオチン、 $\delta\delta$ -デスチオビオチン、2'-チオビオチン、 $\delta\delta$ -デスチオビオチノール、ビスノルビオチン、ビスノルデスビオチンなどである。

抗原決定基具有物質(2)とビオチンあるいはその誘導体との結合方法は、抗原決定基具有物質(2)とビオチンの双方の官能基を考慮して決定すればよい。ビオチンは通常はカルボキシル基を利用するのが好ましい。一方抗原決定基具有物質(2)のほうはアミノ基、水酸基、チオール基、イミダゾール基、フェニル基などを利用すればよい。例えば、ビオチンのカルボキシル基をサクシンイミドエステル化する。これは活性化エステルであり、抗原決定基具有物質(2)が蛋白質である場合には、アミノ基と反応して安定なペプチド結合を形成する。

この方法は抗原決定基具有物質(2)がアミノ基を有するものであれば蛋白質に限らず適用できることはいうまでもない。

抗原決定基具有物質(2)がチオール基を有している場合には、上記のビオチン活性化エステル化システインを反応させてチオール基を導入した後、チオール基反応性二価架橋試薬を用いて結合物を得ることができる。

ビオチン活性化エステルにジアミンを反応させればアミノ化ビオチンが合成される。このアミノ基と抗原決定基具有物質(2)のアミノ基とを架橋させる方法は、ジソツアネート法、一段階グルタルアルデヒド法、ジフルオロベンゼン法、ベンゾキノン法等数多く知られている。また、このアミノ化ビオチンと抗原決定基具有物質(2)のカルボキシル基を結合する架橋法もカルボジイミド法、ウッドワード試薬法等が知られている。さらに、アミノ基と糖鎖を架橋する過ヨウ素酸酸化法(Nakane法)もある。フェニル基を利用する方法としてはジアゾ化法、アルキル化法などがある。

本発明の方法に用いる結合物はこれらの方法によって合成することができる。

反応後はゲル透過、カチオン交換樹脂、アニオン交換樹脂などを用いたイオン交換クロマトグラフィー、シリカゲル、ポラスポリマーなどを用いた吸着剤処理、薄層クロマトグラフィーなどを適宜組み合わせて精製を行ない、必要により凍結乾燥等で乾燥する。

抗原決定基具有物質(1)及び抗原決定基具有物質(2)に共通の抗原決定基と反応する抗体は抗原決定基具有物質(1)、抗原決定基具有物質(2)もしくは前記の結合物又はこれらのいずれかと蛋白との結合物を兎、山羊、馬、モルモット、ニワトリなどの温血動物に体重1kgあたり0.3~2mgを1~数回背中皮下、フットパッド、大腿筋等にアジュバントとともに注射して当該動物の体内に形成させる。この抗体は血清をそのまま用いてもよく、血清から抗体すなわち免疫グロブリンを採取する公知の方法によって精製してから用いてもよい。

一方、この抗体はモノクローナル抗体として取

得することもできる。その場合には、マウスに前記のいずれかの抗原をアジュバントとともに数回腹腔等に注射し、脾臓細胞を取り出してポリエチレングリコール等を用いてマウスミエローマ細胞と融合させる。そして、この融合細胞のなかから当該抗体を産生するものをクローニングによってモノクローナル細胞として増殖させ、マウス腹腔中で増殖させることによって単一抗体、すなわちモノクローナル抗体を大量に製造することができる。

抗体に含まれる抗原決定基具有物質(1)と、前記の結合物とを溶液中でこの抗体に接触させる。接触時の結合物の量は抗体中に予想される抗原決定基具有物質(1)の最大量と同量程度がよく、抗体は結合物との結合定数等によって異なるが例えば結合物に対し1~5倍モル程度がよく、抗原決定基具有物質の量は、例えば0.01ng~1mg程度が適当であり、その場合、結合物は1ng~1mg程度、そして抗体は1μg~10mg程度が通常適当である。溶液のpHは4~8.5程度にするのがよく、そのために必要により、リン酸緩衝液、酢酸緩衝液など

の緩衝液を用いてもよい。温度は抗原決定基具有物質(1)、結合物及び抗体のいずれかが失活しなければよいわけであるが、20~45℃程度にすればよい。抗原決定基具有物質(1)と抗体及び結合物と抗体との接触時間はいずれも、通常は抗体が抗体由来の抗原決定基具有物質(1)あるいは結合物中の抗原決定基具有物質(2)部分と十分に反応しうる程度がよく、例えば37℃の場合には20~60分間程度が適当である。抗体に対する抗原決定基具有物質(1)及び結合物の接触順序は問うところではなく、いずれが先であってもあるいは同時であってもよい。

抗体と抗体中の抗原決定基具有物質(1)及び結合物中の抗原決定基具有物質(2)部分とは溶液中で接触させれば反応する。

次にこの反応物、すなわち抗体と抗原決定基具有物質(1)との反応物及び抗体と結合物との反応物を含むものをビオチン酵素と、アビジン、ストレプトアビジン又はこれらの誘導体であってビオチンと結合しうるものとに接触せしめる。ビオチン

酵素は活性中心にビオチン基をもっているものであって、プロピオニルCoAカルボキシラーゼ、アセチルCoAカルボキシラーゼ、ピルビン酸カルボキシラーゼ、メチルマロニルCoAカルボキシラーゼ、メチルマロニルCoAトランスカルボキシラーゼ、メチルクロトニルCoAカルボキシラーゼ等種々のものが知られているが、そのいずれであっても用いることができる。ビオチン酵素は純品であってもよく、本発明の方法を阻害しない範囲で不純物を含んでいてもよい。ビオチン酵素の量は結合物のアビジン又はストレプトアビジンに対する結合定数等によって異なるが結合物に対するモル比で例えば0.2~2.5程度が適当である。ビオチン酵素は要は反応物と接触させることができればよく、その添加時期は問わない。すなわち、抗原決定基具有物質(1)及び結合物と抗体を反応させる以前から溶液に添加しておいてもよく、また、反応物をアビジン等と接触させたのちに添加してもよい。

アビジン及びストレプトアビジンはビオチンと

結合しうることはいうまでもないが、これらの誘導体もビオチンと結合しうるものであれば用いることができる。誘導体の例としてはアビジンあるいはストレプトアビジンを無水酢酸などでアセチル化したものなど、一般の化学修飾剤で処理したものを挙げることができる。誘導体はビオチンとの結合定数の小さいもののほうが本発明に好適である。アビジン、ストレプトアビジン及びこれらの誘導体はいずれも純品であってもよく、本発明の方法を阻害しない範囲で不純物を含んでいてもよい。これらは通常は単一で使用するが、併用してもよい。添加量は結合物に対するモル比で0.2～2倍程度が適当である。

抗原決定基具有物質(1)及び結合物と抗体との反応物をビオチン酵素及びアビジン等と接触させる際のpH及び温度はアビジン等とビオチン酵素及び結合物中のビオチンが反応しやすい範囲がよく、pHは4～8.5程度、そして、温度は20～45℃程度が適当である。また、接触時間はビオチン酵素及び結合物中のビオチンとアビジン等との反応

が充分に行なわれる程度がよく、例えば37℃の場合には10～60分間程度が適当である。

これらの接触を行なわせただけには、ビオチン酵素の活性を測定してアビジン等と反応しなかったビオチン酵素の量を求める。酵素活性の測定方法は公知の方法に従って行なえばよく、例えばプロピオニル CoA カルボキシラーゼの場合には反応系で生じるADPをピルビン酸キナーゼと乳酸デヒドロゲナーゼにより共役させ、その際のNADHの減少として活性を測定できる。

メチルマロニル CoA トランスカルボキシラーゼの場合には生成したオキサロ酢酸をリンゴ酸デヒドロゲナーゼの共役によってリンゴ酸に変え、その際のNADHの減少量を測定することによって活性値を求めることができる。

また、プロピオニル CoA カルボキシラーゼを用いた場合には、逆反応によってATPを生成させて、これをルシフェラーゼ及びルシフェリンの共存下で反応させると生物発光する。そこで、これをフュトンカウンターで測定することによって 10^{-15}

M以下のATPを定量できる。この方法を用いればさらに極微量の抗原決定基具有物質(1)を定量することが可能である。

本発明の方法は抗原決定基具有物質(1)を極めて高感度で測定できる。例えばビオチンそのものとアビジンそのものを用いた場合には 10^{-11} グラムの抗原決定基具有物質(1)を定量することが可能である。本発明の方法は、そのほか操作が簡便であり安価かつ容易に抗原決定基具有物質(1)を定量することが可能である。

以下、実施例を示す。

実施例1 ヒトIgGの測定

I) ヒトIgG-ビオチン結合物の調製

ビオチン50mgをジメチルスルホキシド5mlに懸濁し、N-ヒドロキシサクシンイミド25mgを加えて4℃に冷却した。この混合物にジクロヘキシルカルボジイミド50mgを攪拌しつつ加え、2時間攪拌後4℃で一晩放置した。沈殿物を分別し、上液から溶媒を減圧下で留去した。残渣に少量のエーテルを加え、結晶化物をグラスフィルターで集めてエーテルで洗浄した。これによりビオ

チンサクシンイミドエステル30mgを得た。

一方、ヒトIgG20mgを0.1M炭酸緩衝液(pH8.0)4mlに溶かし、上記のビオチンサクシンイミドエステルのジメチルスルホキシド溶液2.0mg/mlを200μl加えて室温で2時間攪拌して反応させた。反応液を予めpH7.0の20mMリン酸緩衝生理食塩溶液で平衡化しておいたセフアデックスG-25のカラムに流し、流出液の波長280nmにおける吸光度を測定して流出してくる最初のピーク区分を集めて凍結乾燥し、ヒトIgG-ビオチン結合物を得た。

II) ヒトIgGの定量

ヒトIgGの濃度が0mg/ml、0.2mg/ml、0.4mg/ml、0.8mg/ml、2.0mg/ml、及び4.0mg/mlの各50μlの溶液にそれぞれヒトIgG-ビオチン結合物0.5mg/ml、プロピオニル CoA カルボキシラーゼ80μg/ml及び抗ヒトIgGヤギ血清の1/20希釈液を含む溶液50μlを加え、37℃で30分間加温した。各々に30μg/mlのアビジン溶液を100μlづつ加えて37℃で15分間放置した。次に、

4 mM $MgCl_2$ 、2 mM グルタチオン(還元型)、
2 mM ATP、0.1 M KCl 、50 mM 炭酸水素カリウ
ム、1 mM ホスホエノールピルビン酸、2500 U/ℓ
ピルビン酸キナーゼ、3500 U/ℓ 乳酸デヒドロゲ
ナーゼ、0.15 mM NADH、及び2 mM プロピオニル
CoAを含む基質溶液Aを1.2 mlづつ加え、37℃
で波長340 nmにおける吸光度を測定し、ヒト
IgGの濃度とプロピオニルCoAカルボキシラーゼ
の活性との関係を求めた。

得られた結果を第1図に示す。

次に、各種のヒト血清をいずれも20倍に希釈
し、その50 μℓづつを用いて上記と同様に測定を
行ない、第1図を検量線としてIgGの濃度を測定
した。一方、これに並行して従来法であるSRID
法を用いて同じヒト血清のIgG濃度を測定した。

得られた結果を下表に示す。

血 清	IgG 濃 度	
	本発明法	SRID 法
A	15.1 ng/ℓ	14.2 ng/ℓ
B	16.7	16.3
C	11.6	12.0
D	18.1	18.5
E	16.2	16.4

実施例2 ジゴキシンの測定

ジゴキシンを0～4 ng/ℓ含有する既知濃度の
各種溶液各50 μℓに1.5 μg/ℓのジゴキシニン-ビ
オチン結合物溶液25 μℓ及び抗ジゴキシニンウサギ
血清25 μℓを加え、37℃で20分間加熱後120
μg/ℓのフビジン溶液25 μℓを加え、37℃で
10分間加熱した。次いで、1.50 μg/ℓのプロピ
オニルCoAカルボキシラーゼ溶液25 μℓを加えて
37℃で30分間加熱した。それから、実施例1
と同じ基質溶液Aを1.2 ml加え、37℃に保って
340 nmにおける吸光度を測定し、ジゴキシニン濃
度とプロピオニルCoAカルボキシラーゼの活性と
の関係を求めた。

得られた結果を第2図に示す。

次にジゴキシンの投与を受けている患者の血清
を中心として各種のヒト血清各50 μℓを用い、上
記と同様にして測定し、第2図を検量線としてジ
ゴキシニンの濃度を測定した。得られた結果を下表
に示す。従来法であるRIA法で測定して得られた
結果も併せて同表に示す。

血 清	ジゴキシニン濃度	
	本発明法	RIA 法
1	0.0 ng/ℓ	0.0 ng/ℓ
2	1.1	0.9
3	1.8	1.6
4	0.9	1.0
5	0.31	0.28
6	1.8	1.7
7	0.21	0.19

実施例3 インシュリンの測定

- 1) インシュリン-ビスノルビオチン結合物の
調製

インシュリン5 mgをpH 8.0の0.1 M炭酸緩衝液
に溶解し、ビスノルビオチンのサクシンイミドエ
ステル200 μgをジゴキサン100 μℓに溶かした
溶液を加えた。37℃にて1時間攪拌後セフデ
ックスG-25を用いてゲル濾過し、未反応のビ
スノルビオチンを除去した。ポイドに溶出された
インシュリン-ビスノルビオチン結合物を凍結乾
燥した。

II) インシュリンの定量

インシュリンの濃度が0 μU/ℓ、10 μU/ℓ、
20 μU/ℓ、40 μU/ℓ、80 μU/ℓ、160 μU/ℓ
及び320 μU/ℓの溶液を各50 μℓ宛試験管にとり
これに各々20 μgのインシュリン-ビスノルビオ
チン結合物を含む50 μℓの溶液を加えた。37℃
で30分間加熱後、各々に15 μgのストレプトア
ビジンを含む100 μℓの溶液を加え、10分
後に各々に40 μgのメチルマロニルCoAトランス
カルボキシラーゼを含む50 μℓの溶液を加えて
37℃で10分間加熱した。各々にピルビン酸
5 mM、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ2000 U/ℓ及び

NADH 0.25 mMを含む pH 7.2 の 50 mM トリス-塩酸緩衝溶液 1.0 ml 宛加えて波長 340 nm における吸光度を測定して、インシュリンの濃度とメチルマロニル CoA トランスカルボキシラーゼ活性との関係を求めた。

得られた結果を第3図に示す。

各種ヒト血清について上記と同様に測定を行ない、第3図を検量線としてインシュリンの濃度を測定した結果を下表に示す。従来法であるRIA法で測定した結果も併せて同表に示す。

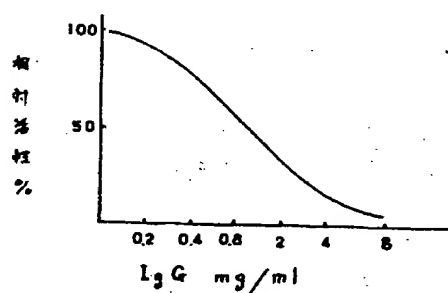
血清	インシュリン濃度	
	本発明法	RIA法
1	10 $\mu\text{U/ml}$	9.0 $\mu\text{U/ml}$
2	30	26
3	105	107
4	28	22
5	210	230

4 図面の簡単な説明

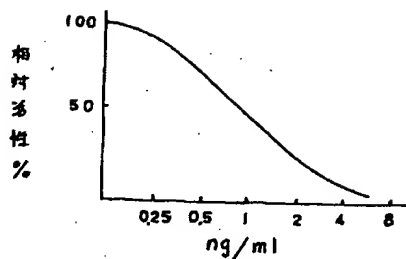
第1図はヒト IgG について、第2図はジゴキシンについて、そして第3図はインシュリンについて、いずれも濃度とピオチン酵素の活性との関係を測定した結果を示すものである。

特許出願人 富士臓器製薬株式会社
代理人 井理士 田中 政 浩

第 1 図



第 2 図



第 3 図

